Cryptogamie, Mycol., 1989, *10* (1): 19-32

VARIABILITÉ DE LA SPÉCIFICITÉ PARASITAIRE CHEZ *VERTICILLIUM ALBO-ATRUM* REINKE ET BERTHOLD, FORME À MICROSCLÉROTES

par Allal DOUIRA et Houria LAHLOU*

* Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V, Maroc.

RÉSUMÉ - Un isolat de *Verticillium albo-atrum* provenant de la tomate s'est montré apte à vivre en parasite au dépens du piment. Cette aptitude parasitaire est fonction de l'âge des plantes de piment et ne s'accompagne à la première inoculation, d'aucune manifestation pathologique. Des passages successifs de cet isolat chez le piment ont conduit à un élargissement progressif de ses aptitudes parasitaires à des plantes plus jeunes et à l'apparition d'un pouvoir pathogène vis-à-vis de cette espèce. Corrélativement, une réduction graduelle de son pouvoir pathogène à l'encontre de son hôte d'origine a été observée mais ses aptitudes à le parasiter se sont maintenues. Les passages successifs sur piment se sont accompagnés de variations dans le développement du champignon. La plus marquante est la diminution de la production des microsclérotes. Elle résulte simultanément d'un allongement du délai nécessaire à leur différenciation et d'une décroissance de leur nombre. Des hypothèses sur la nature de ces variations sont proposées et les conséquences agronomiques de ces phénomènes sont discutées.

ABSTRACT - A strain of *Verticillium albo-atrum*, a tomato parasite, was shown to be able to become a parasite of the pepper plant also. This parasitic aptitude was a function of the age of the pepper plant and, after a single inoculation, was not accompanied by pathogenic manifestations. Successive passages of this strain in pepper led to a progressive increase in the parasitic aptitude towards younger plants and to the appearance of a pathogenicity concerning this species. At the same time, a gradual reduction in pathogenecity towards the original host plant was observed but the strain did retain its parasitic aptitude. Serial passages in pepper produced variations in fungal development. The biggest variation noted was a reduction in microsclerotia production. This was a result of both a lengthening of their differentiation period and a reduction in their number. Some hypotheses on the nature of these variations were proposed and the agronomical consequences of the phenomena were discussed.

MOTS CLÉS : *Verticillium albo-atrum*, spécificité parasitaire.

INTRODUCTION

De nombreuses espèces de végétaux vasculaires, y compris parmi les monocotylédones (Malik & Milton, 1980), sont sensibles aux attaques de champignons du genre *Verticillium* Wallroth. Mais la polyphagie n'exclut pas une spécialisation des souches au sein des espèces du genre *Verticillium*. Ainsi, le piment n'est sensible qu'aux isolats provenant du piment (Evans & McKeen, 1975). Il en est de même pour la menthe (Nelson, 1950) et pour la luzerne (McGeary & Hastie, 1982). A l'opposé, l'aubergine est attaquée avec succès par des isolats provenant d'espèces hôtes très diverses (Vigouroux, 1971) et la tomate présente un comportement intermédiaire (McGeary & Hastie, 1982).

La spécificité manifestée par certains isolats à l'égard de l'hôte dont ils proviennent ne semble pas invariable. Fordyce & Green (1963) ont montré qu'une lignée inféodée à la menthe est capable de vivre au dépens de la tomate et, après plusieurs passages successifs chez cette dernière, de provoquer chez elle des altérations typiques de la verticilliose.

De son côté, Lahlou (1983) a analysé parallèlement les variations de la morphologie et du pouvoir pathogène d'une souche de *V. albo-atrum* entretenue en culture *in vitro*; cet auteur a constaté que, lorsque les cultures vieillissent, il peut en être isolé des lignées de morphologie nouvelle et que, même parmi celles qui ont conservé le phénotype sauvage, il en existe dont le pouvoir pathogène a varié, souvent dans le sens d'un accroissement de l'agressivité initiale.

Le rapprochement de ces deux séries d'informations nous a conduit à nous demander si les aptitudes parasitaires et le pouvoir pathogène d'une souche de *V. albo-atrum* provenant d'une espèce hôte peu sélective, comme la tomate, peuvent être modifiés d'une part au cours de son vieillissement et d'autre part à la suite d'inoculations successives à une espèce, comme le piment, qui ne présente habituellement de symptômes de maladie qu'en réponse à l'inoculation d'une souche spécialisée.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les agents pathogènes

Trois isolats appartenant à l'espèce *V. albo-atrum* R. et B. ont été utilisés.

L'isolat P_3 a été obtenu, en 1978, à partir d'une tige de tomate atteinte de verticilliose au Maroc, dans la région de Casablanca (Dar Bouazza). Il produit des microsclérotes en grande quantité et s'identifie, par ce caractère, à la forme à microsclérotes sensu Lahlou (1974). Très agressif à l'égard de la tomate, il ne provoque aucun dommage chez le piment.

Les 2 isolats C285 et 3-2, fournis par le laboratoire de cryptogamie de l'Université de Paris-Sud (Orsay), ont été collectés sur des piments dans le sud de la France, le premier sur une plante cultivée en plein air, le deuxième sur une plante cultivée en serre.

temps en jours depuis l'inoculation	Lignées inoculées													
	P_3S		P_3R_1		P_3R_3		P_3R_6		$P_3R_3a^1$		$P_3R_3a^3$		Témoin	
	plj	plâ	plj	plâ	plj	plâ	plj	plâ	plj	plâ	plj	plâ	plj	plâ
[illegible]	–	+R	–	+R	+R	+R	–	+R	–	+R	–	+R	–	–
[illegible]	–	–	–	+R	+R	+R	+R	–	+R	R.+H	+R	+R	–	–
3	–	+R	–	+R	–	R.+H	+R	+R	–	–	+R	R.+H	–	–
[illegible]	–	–	–	+R	+R	–	+R	+R	R.+H	–	+R	R.+H	–	–
15	–	+R	–	+R	+R	+R	+R	R.+H	+R	R.+H	R.+H	+R	–	–
22	–	–	–	–	–	+R	+R	+R	–	R.+H	+R	R.+H	–	–
29	–	–	–	–	–	–	+R	+R	–	+R	R.+H	R.+H	–	–
36	–	–	–	–	–	+R	R.+H	+R	–	R.+H	R.+H	R.+H.E	–	–
45	–	–	–	–	–	+R	–	R.+H	–	R.+H	R.+H.E	R.+H.E	–	–
55	–	–	–	–	–	R.+H	R.+H	R.+H	–	+R	R.+H.E	R.+H.E	–	–

Tableau I: Variation des aptitudes parasitaires de la souche P_3 au cours des passages successifs chez le piment. plj: plantes inoculées à l'âge de 23 jours, plâ: plantes inoculées à l'âge de 70 jours, + -: réisolement positif/négatif, R: racines, H: hypocotyle, E: épicotyle.

Table I - Variation of parasitic aptitudes of P_3 strain after serial passages through pepper. plj: plants inoculated 23 days old, plâ: plants inoculated 70 days old, +/-: positive negative re-isolation, R: roots, H: hypocotyl, E: epicotyl.

Des clones ont été extraits de ces 3 isolats, par transfert de microconidies une à une. Ce sont toujours des lignées homocaryotiques qui ont servi de support pour toutes les expériences. Isolats et lignées sont entretenues en culture sur un milieu nutritif (20g de Potato Dextrose Agar-Oxoïd CM 139 additionnés de 5g de gélose pour 1 litre d'eau distillée). Les cultures sont conduites en boîte de Pétri, à l'obscurité, à une température de 25° (± 1°)C.

Les variations de la morphologie des thalles ont été appréciées en prenant en compte 3 caractéristiques des cultures: croissance diamétrale, délai d'apparition des microsclérotes et intensité de la sclérogenèse.

Les plantes hôtes

Les cultures sont effectuées dans une chambre dont la température et l'humidité relative sont stabilisées: 25° + 2°C, 55-65% H.R. sous une photopériode de 12h avec une luminosité minimale de 23000 lux.

Les semences, piment doux d'Espagne et tomate variété Marmande, sont commercialisées par la société VITA. Après la levée, les plantes sont repiquées en pots de 250ml remplis de sable. Le sable est au préalable traité à l'acide chlorhydrique, lavé plusieurs fois à l'eau distillée, stérilisé par la chaleur sèche (24h à 180°C) et imprégné d'une solution nutritive (Lahlou, 1983). Des lots de 21 plantes chacun sont constitués pour étudier les aptitudes parasitaires et pathogènes de *V. albo-atrum*.

Inoculation

L'inoculum est une suspension de microconidies (10^6 spores ml) récoltées par lavage de thalles âgés de 4 jours.

Les plants de piment sont inoculés après 23 jours ou 70 jours de culture en pépinière, les plants de tomate au bout de 23 jours. Les plantes sont arrachées, leurs racines sont débarrassées du sable et mises à tremper pendant 15mn dans la suspension de spores. Les plantes sont ensuite repiquées en pots et reçoivent chacune 3ml de la suspension. Des lots témoins subissent simultanément les mêmes manipulations mais l'eau stérile remplace la suspension contaminatrice. Toutes les plantes sont arrosées, tous les 2 jours, avec la solution nutritive.

Notation des résultats

- Présence de *V. albo-atrum* dans les plantes: la présence du champignon est recherchée 1, 2, 3, 8, 15, 22, 29, 36, 45 et 55 jours après l'inoculation. Des coupes minces de racines et de tiges sont déposées dans l'alcool à 95° pendant 2mn, rincées plusieurs fois à l'eau stérile, séchées rapidement sur un papier absorbant stérile puis déposées sur eau gélosée (20g gélose.l eau distillée). Les observations sont faites après 1 semaine.

- Croissance des plantes: la réduction de la taille de l'épicotyle des plants inoculés par rapport aux témoins est estimée par l'indice de rabougrissement (I.R.) calculé de la manière suivante:

$$I.R. = \frac{M - X}{M} \times 100$$

où X représente l'accroissement de l'épicotyle des plants inoculés et M l'accroissement moyen des témoins.

- Altération des feuilles: une note est attribuée à chaque feuille selon le barème suivant: feuille d'apparence saine - 0; feuille cotylédonaire: flétrissement ou jaunissement - 1, chûte - 2; feuille vraie: flétrissement ou jaunissement - 3, nécrose - 4, chûte - 5.

La somme des notes rapportée au nombre des feuilles constitue l'indice d'altération foliaire. Un indice moyen est ensuite calculé pour chaque lot de plants.

RÉSULTATS

Variation des aptitudes parasitaires et pathogènes de *Verticillium albo-atrum* en fonction de l'âge des cultures

Des microconidies ont été prélevées chaque mois pendant 13 mois dans des cultures de la souche P_3 provenant de la tomate. Mises en suspension, elles ont servi à contaminer des lots de plantes de piment. Des essais de réisolement du champignon ont été effectués toutes les 24 heures.

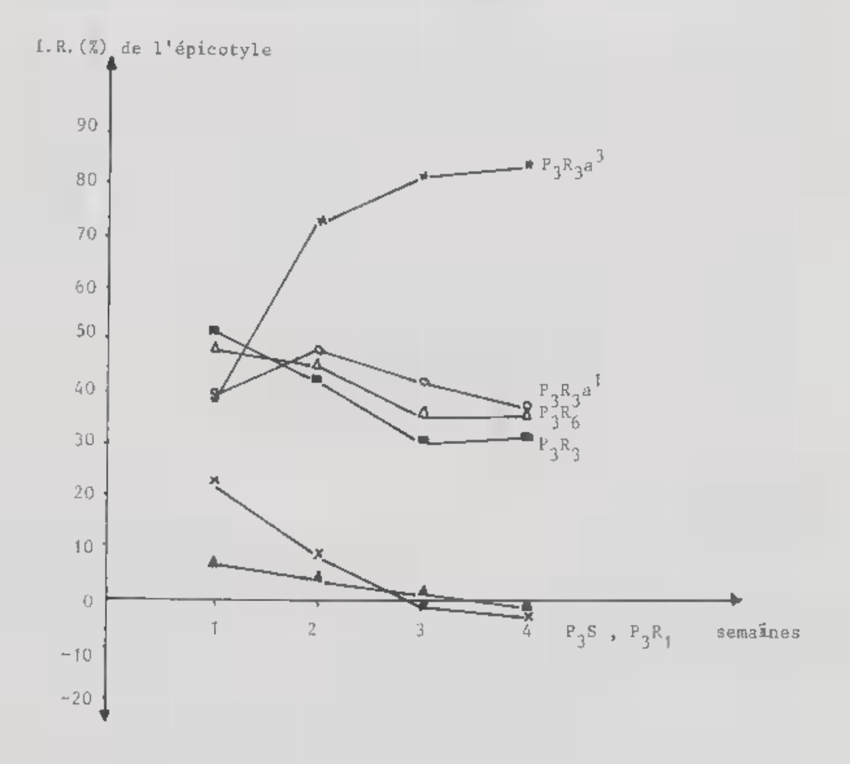


Fig. 1 - Évolution du pouvoir pathogène du clone **P_3S vis-à-vis du piment** âgé, après plusieurs passages répétés sur piment: indice **du rabougrissement (I.R.).**

Fig. 1 - Evolution of pathogenicity of the clone **P_3S to old pepper** after serial passages through pepper: dwarfing index (I.R.).

En aucun cas le champignon n'a été retrouvé dans les plantes inoculées à un stade jeune (23 jours). En revanche, des résultats positifs ont été enregistrés chez des plantes inoculées à l'âge de 70 jours, avec des spores provenant d'une culture âgée de 13 mois: aucune plante des 42 plantes ne présente de symptômes de verticilliose, mais les racines de 2 d'entre elles hébergent le champignon.

Le champignon a été remis en culture sur milieu nutritif à partir de ces racines de piment parasitées et des lignées homocaryotes ont été individualisées après isolements monoconidiens. L'une de ces lignées (P_3S) a été retenue pour la suite des expériences. Elle présente la morphologie caractéristique de la souche P_3: sclérogenèse abondante commençant après 4 jours de culture, mycélium cotonneux. Inoculée à la tomate, elle est capable, comme la souche d'origine, d'induire des symptômes graves de verticilliose, notamment un ralentissement de la croissance de l'axe aérien, un jaunissement et un flétrissement des feuilles. Inoculée au piment (Tab. I), elle ne peut pas être réisolée des plantes traitées jeunes mais elle demeure présente pendant 2 semaines dans les racines des plantes traitées à l'âge de 70 jours.

Variation des aptitudes parasitaires au contact de l'hôte inhabituel

Le champignon a été mis en culture à partir des racines des plantes de piment chez lesquelles il avait été détecté. Une nouvelle lignée homocaryotique (P_3R_1) a été individualisée par prélèvement d'une seule microconidie dans un thalle âgé de 10 jours. Choisie pour sa capacité à former rapidement un grand nombre de microsclérotes, elle est, à son tour, inoculée à des piments jeunes (23 j) et âgées (70 j). Comme précédemment, le champignon ne peut être détecté que dans les racines des plantes les plus âgées et seulement pendant les 15 jours qui suivent l'inoculation.

Les mêmes expériences de passages successifs chez l'hôte ont été répétées 2 fois. La lignée P_3R_2, issue de la lignée P_3R_1, présente les mêmes aptitudes à vivre pendant un temps limité aux dépens des racines des plantes les plus âgées. Cependant, la lignée P_3R_3 issue de P_3R_2, manifeste des aptitudes parasitaires accrues. Le tableau I montre qu'elle persiste encore dans les racines et l'hypocotyle des piments les plus âgés, à la fin des observations soit 55 jours après l'inoculation. Par ailleurs, elle peut être détectée pendant 2 semaines dans les racines des plantes inoculées à l'âge de 23 jours.

Une lignée ($P_3R_3a^1$) a été extraite d'un piment inoculé jeune avec la lignée P_3R_3. Deux passages supplémentaires chez les piments jeunes fournissent successivement les lignées $P_3R_3a^2$ et $P_3R_3a^3$.

La lignée $P_3R_3a^1$ peut être détectée jusque dans l'hypocotyle des jeunes piments, ce qui n'a pas été le cas de P_3R_3, mais elle n'est plus retrouvée, même dans les racines, au delà de 15 jours. Quand à la lignée $P_3R_3a^3$, elle atteint l'épicotyle des plantes inoculées jeunes au bout de 45 jours et est encore présente dans ces plantes à la fin des observations, soit 55 jours après l'inoculation.

Inoculée à des piments âgés de 70 jours, les lignées $P_3R_3a^1$ et $P_3R_3a^3$ sont plus aptes à les parasiter que la lignée P_3R_3 dont elles dérivent. Présentes dans les racines dès le lendemain de l'inoculation, elles atteignent l'hypocotyle après respectivement 48 et 72 h et persistent toutes deux dans la plante pendant les 55 jours

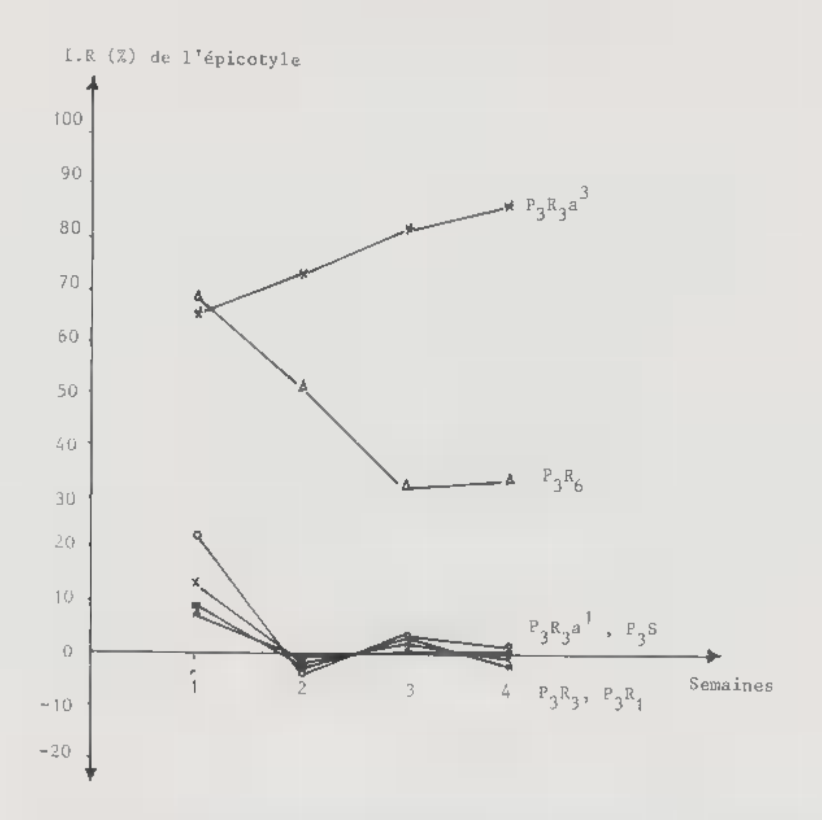


Fig. 2 - Évolution du pouvoir pathogène du clone P_3S vis-à-vis du piment jeune, après passages répétés sur piment: indice de rabougrissement (I.R.).

Fig. 2 - Evolution of pathogenicity of the clone P_3S to young pepper after serial passages through pepper: dwarfing index (I.R.).

que durent les observations. Toutefois, $P_3R_3a^3$ est seule à atteindre l'épicotyle, dès le 36ème jour suivant l'inoculation. Comparée à des lignées issues des isolats C285 et 3-2 provenant du piment, cette lignée $P_3R_3a^3$ est, de toutes les lignées issues de l'isolat P_3 provenant de la tomate, la seule à pouvoir être réisolée des différents organes (racine, hypocotyle, épicotyle) 45 jours après l'inoculation de piments, que ceux-ci soient mis en présence des champignons à l'âge de 23 ou de 70 jours.

Des piments inoculés à l'âge de 70 jours avec la lignée P_3R_3 a été extraite la lignée P_3R_4. Deux passages supplémentaires chez des piments âgés ont permis d'individualiser successivement les lignées P_3R_5 et P_3R_6. P_3R_6 parasite aussi bien les plantes jeunes que les plantes âgées et peut même être réisolé à partir de leur hypocotyle 55 jours après leur inoculation.

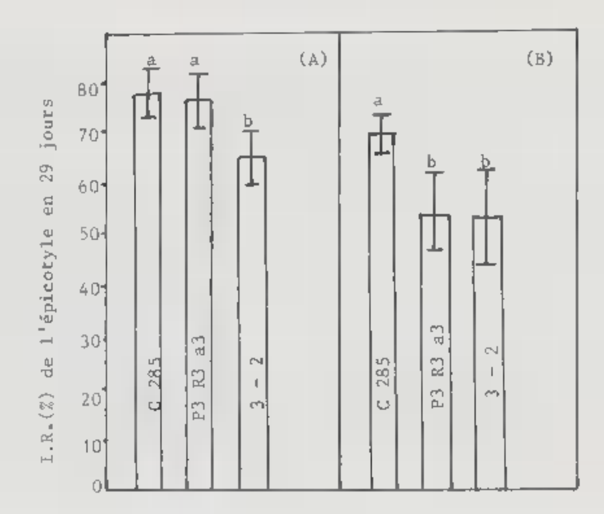


Fig. 3 - Comparaison du pouvoir pathogène des lignées $P_3R_3a^3$, C285 et 3-2 vis-à-vis des piments inoculés à l'âge de 23 (A) et de 70 jours (B): indice de rabougrissement (I.R.). a, b: groupes de moyennes statistiquement équivalentes au seuil 5%.

Fig. 3 - Comparative pathogenicity of $P_3R_3a^3$, C 285 and 3-2 lines against peppers inoculated at 23 (A) and 70 days (B): dwarfing index (I.R.). a, b: groups of statistically equivalent mean values (at 5%).

Inoculées à des plants de tomate, les lignées P_3S, P_3R_1,P_3R_3, P_3R_6, $P_3R_3a^1$ et $P_3R_3a^3$ ont été réisolées de toutes les plantes. Mais la lignée $P_3R_3a^3$, n'a pu être décelée au delà de l'hypocotyle.

Ainsi, les passages successifs d'une souche non spécialisée de *V. albo-atrum* chez un hôte inhabituel, s'accompagnent de modifications progressives des relations entre les 2 partenaires. Les plantes âgées sont les premières à être parasitées. Plusieurs passages chez ces plantes ont été nécessaires pour que le champignon s'installe d'abord temporairement, puis durablement chez des piments mis plus jeunes à son contact. De même, au fil des passages, le champignon, d'abord confiné dans les racines, progresse de plus en plus loin en direction de l'apex de la plante.

Variation du pouvoir pathogène au contact de l'hôte inhabituel

- Altération de la croissance de l'épicotyle: les effets de l'inoculation de la souche P_3 au piment s'accentuent avec le nombre de passages chez cet hôte inhabituel (Fig. 1, 2). Ils sont nuls pour les lignées P_3S et P_3R_1, les plantes ne présentent aucun rabougrissement significatif par rapport au témoin. En revanche, les plantes âgées de 70 jours lors de l'inoculation des lignées P_3R_3, $P_3R_3a^1$ et P_3R_6 ont un indice de rabougrissement important; ces 3 lignées ne se distinguent pas l'une de l'autre par le ralentissement de croissance qu'elles induisent. Quant

la lignée $P_3R_3a^3$, elle est la seule à provoquer des troubles de croissance chez les plantes inoculées au stade jeune et elle entraine un rabougrissement des plantes âgées plus intense que les autres lignées.

- L'indice de rabougrissement calculé pour les plants inoculés avec les clones C285 et 3-2 montre que la lignée $P_3R_3a^3$ affecte leur croissance aussi profondément que ceux-ci, que l'inoculation soit effectuée après 23 ou 70 jours de pépinière (Fig. 3). Son action s'exerce avec la même force que celle du clone 3-2 sur les plantes âgées et il a le même effet que le clone C285 sur les plantes jeunes. A en juger par le nanisme des axes aériens, la lignée $P_3R_3a^3$ est aussi pathogène à l'égard du piment que les isolats spécialisés.

Toutes les lignées issues de P_3S à la suite de passages successifs chez des piments réduisent significativement la hauteur des tiges des tomates Marmande (Fig. 4). Cette réduction est plus forte, et identique, avec les lignées P_3S, P_3R_1, P_3R_3 et P_3R_6; elle est moins intense avec la lignée $P_3R_3a^1$ et encore plus atténuée pour la lignée $P_3R_3a^3$. Il apparait ainsi nettement que le pouvoir pathogène, apprécié par l'action inhibitrice exercée sur la tige de la tomate, diminue vis-à-vis de l'hôte d'origine en proportion inverse du nombre de passages du champignon chez l'hôte inhabituel, le piment.

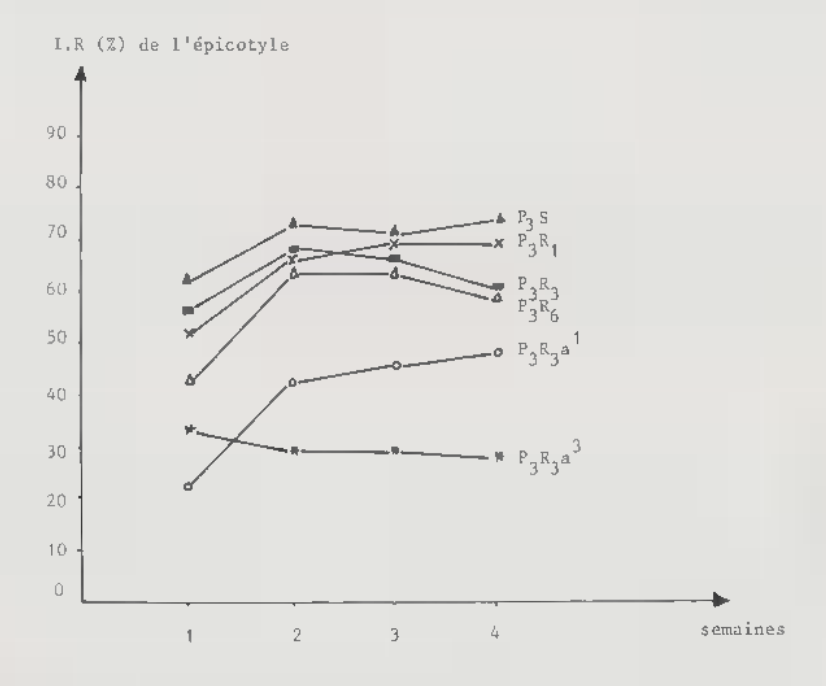


Fig. 4 - Évolution du pouvoir pathogène du clone P_3S vis-à-vis de la tomate, après passages répétés sur piment: indice de rabougrissement (I.R.).

Fig. 4 - Evolution of pathogenicity of P_3S line to tomato after serial passages through pepper: dwarfing index (I.R.).

Les lignées P_3R_4 et P_3R_5, issues de passages successifs chez des piments inoculés après 70 jours de pépinière n'ont jamais perturbé la croissance du piment inoculé jeune.

- Altération des feuilles: aucun piment, quel que soit l'âge choisi pour son inoculation avec les lignées P_3R_3, P_3R_4, P_3R_6 et $P_3R_3a^1$, n'a montré le moindre signe de maladie au niveau de son feuillage au cours des 4 semaines d'observation. Des altérations foliaires ne sont perceptibles que chez les plants qui ont reçu la lignée $P_3R_3a^3$, c'est-à-dire celle dont les ascendants ont effectué le plus grand nombre de passages chez le piment jeune.

Il apparait, une seconde fois, que des passages successifs du champignon chez un hôte inhabituel jeune s'accompagne de l'expression progressive d'un pouvoir pathogène nouveau, dont la composante traduite par les dommages aux feuilles n'est décelable qu'après la composante traduite par le ralentissement de la croissance du piment.

Par comparaison avec les clones C285 et 3-2 inféodés spécialement au piment, la lignée $P_3R_3a^3$ provoque des désordres au niveau des feuilles des plantes inoculées jeunes d'une intensité comparable à ceux engendrés par le clone C285 et très nettement supérieure à celle mesurée pour le clone 3-2. Inoculée à des plantes de piment plus âgées, la lignée $P_3R_3a^3$ se montre moins agressive que le clone C285 mais plus que le clone 3-2 (Tab. II).

Ainsi, des passages successifs chez un hôte inhabituel conduisent à une agressivité vis-à-vis de cette plante qui rejoint, par son intensité, celle qui est manifestée par des isolats spécialisés.

Mais parallèlement, l'aptitude à perturber le fonctionnement des feuilles de l'hôte d'origine va en s'atténuant. Les altérations foliaires apparaissent, chez la tomate, 15 jours après l'inoculation des lignées P_3S, P_3R_1, P_3R_3, P_3R_6 et $P_3R_3a^1$ mais avec 1 semaine de délai supplémentaire dans le cas de $P_3R_3a^3$. La gravité des désordres infligés aux feuilles de la tomate varie dans le même sens: l'indice est toujours plus élevé à la suite de l'inoculation de la lignée P_3S que de la lignée $P_3R_3a^3$ (Tab. III).

Variation de la morphologie au contact de l'hôte inhabituel

A la suite de chaque passage chez le piment des boutures ont été mises en culture (à raison de 4 par boîte de Pétri) dans les conditions standard (Lahlou, 1974). Après 15 jours de culture, la croissance des thalles, mesurée par leur diamètre, apparait d'autant plus active que le nombre des passages préalables chez le piment est plus important (Tab. IV). Pour la lignée $P_3R_3a^3$ elle est près de 40 % supérieure à celle observée pour la lignée P_3S.

A l'inverse, la différenciation des microsclérotes est fortement retardée. Au sein du mycélium des lignées P_3S et P_3R_1, ces derniers apparaissent dès le 4ème jour de culture, mais ils ne se forment qu'au bout de 8, 12, 13 et 14 jours respectivement pour les lignées P_3R_3, P_3R_6, $P_3R_3a^1$ et $P_3R_3a^3$.

Le retard de la sclérogenèse s'accompagne d'une réduction de son intensité. Le disque central des thalles coloré en noir par les microsclérotes couvre une surface d'autant plus petite que le nombre des passages du champignon chez le

		Lignée			
		$P_3R_3a^3$	C 285	3 - 2	Témoin
I.f. 29 Jours après inoculation	plj m	0,68	0,70	0,19	-
	6^2	0,11 bc	0,25 bc	0,27 a	
	plã m	0,82	1,03	0,57	-
	6^2	0,067 c	0,25 d	0,088b	

Tableau II - Comparaison du pouvoir pathogène des clones $P_3R_3a^3$, 3-2 et C285 vis-à-vis du piment: indice foliaire (I.f.). plã: plantes âgées, plj: plantes jeunes, m: indice foliaire moyen, 6^2: variance, a, b, c - groupes des moyennes statistiquement équivalentes au seuil 5%.

Table II - Comparative pathogenicity to pepper of clones $P_3R_3a^3$, 3-2 and C285: evolution of the foliar index (I.f.). plã: old plants, plj: young plants, m: evolution of the mean foliar index, 6^2: variance, a, b, c - groups of statistically equivalent mean values (at 5%).

piment est plus élevé. Après 15 jours de culture par comparaison avec la lignée P_3S, cette surface est réduite de 4 fois pour la lignée P_3R_3 et de 100 fois pour la lignée $P_3R_3a^1$.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Aussi bien en milieu de vie saprophytique, au cours de cultures sur un substrat non vivant, qu'au contact d'une plante hôte d'une autre espèce que celle dont elle a été isolée, une souche de *Verticillium albo-atrum* a présenté des variations de grande amplitude qui ont affecté sa croissance et sa morphogenèse, son aptitude à vivre en parasite au dépens de l'hôte d'origine et de l'hôte inhabituel et son pouvoir pathogène, c'est-à-dire sa capacité d'induire des symptômes de maladie chez ces plantes.

L'isolat P_3 provenant d'un hôte peu sélectif, la tomate, était incapable de s'installer dans les organes d'un hôte sélectif, le piment. Mais un clone, homocaryotique à l'origine, prélevé dans cet isolat après une période prolongée de culture in vitro, a conduit à des lignées présentant des caractéristiques nouvelles. Alors que certaines de ces lignées ont conservé des caractères culturaux de type sauvage, l'une au moins, P_3S, est devenue apte à vivre 2 semaines dans les racines d'un piment inoculé après un long temps (70 jours) de culture.

De cette lignée nouvelle peuvent être extraites, au fil des passages successifs chez le piment, d'autres lignées dont les aptitudes parasitaires à l'égard du piment sont de plus en plus marquées. Avec un délai suplémentaire apparaissent des lignées qui présentent pour l'hôte imposé un niveau d'agressivité comparable à celui de souches originaires du piment.

Parallèlement aux changements des relations entre *Verticillium albo-atrum* et son hôte inhabituel, les relations avec l'hôte habituel sont elles-mêmes modifiées:

I.f. / temps entre inoculation et observation \ Clone		P_3S	P_3R_1	P_3R_3	P_3R_6	$P_3R_3a^1$	$P_3R_3a^1$	Témoin
8 j		–	–	–	–	–	–	–
15 j	m	0,081	0,029	0,026	0,045	0,038	–	–
	6^2	0,054 ab	0,003 [illegible]	0,0026 [illegible]	0,006 a	0,047 [illegible]		
22 j	m	0,23	0,12	0,17	0,0116	0,064	0,06	–
	6^2	0,009 d	0,009 b	0,02 bc	0,011 b	0,082 a	0,017 a	
29 j	m	0,59	0,30	0,27	0,28	0,21	0,09	–
	6^2	0,17	0,034	0,04	0,035	0,024	0,02	
		f	de	de	de	cd	ab	

Tableau III - Évolution du pouvoir pathogène du clone P_3S vis-à-vis de la tomate, après passages répétés sur piment: indice foliaire (I.f.). (-): pas de symptômes, m, 6^2, a, b, c: voir Tabl. II.

Table III - Evolution of pathogenicity of the clone P_3S to tomato after serial passages through pepper: evolution of the foliar index (I.f.). (-): no symptoms, m, 6^2, a, b, c: see Tabl. II.

l'agressivité est dès le début fortement diminuée, les aptitudes parasitaires sont plus longtemps conservées. Ces changements sont accompagnés de modifications de la morphogenèse.

Le stade du développement de l'hôte inhabituel auquel l'inoculation est pratiquée influe sur l'évolution du champignon. Le piment âgé est plus réceptif. Les plantes inoculées jeunes n'hébergent pas (P_3S, P_3R_1) ou pas longtemps (P_3R_3 et $P_3R_3a^1$) les lignées issues de la souche P_3 provenant de la tomate, alors que les plantes inoculées plus tardivement le font. La même observation a été effectuée par Gondran (1984): des cultivars de luzerne sont plus attaqués par *Verticillium* sp. à l'âge de 3 mois qu'à l'âge d'1 mois. Tout se passe comme si les plantes jeunes de piment possédaient des moyens de défense plus efficaces. Cette hypothèse est confortée par une autre observation: les piments inoculés avec la lignée P_3R_6, dont les ascendants n'ont jamais été hébergés par des plantes jeunes, n'ont manifesté aucune altération foliaire, alors que ces altérations sont nettes chez les plantes inoculées avec la lignée $P_3R_3a^3$ individualisée à la suite de 3 passages chez les plantes jeunes. Le passage par des plantes jeunes paraît favoriser l'émergence de lignées plus agressives. Ceci est à rapprocher des résultats de Lincoln (1940): l'accroissement de la virulence de *Phytomonas stewartii* à la suite de plusieurs passages chez le maïs est d'autant plus important que les passages se font chez une variété plus résistante.

Tous les faits observés s'accordent avec l'idée que l'hôte inhabituel exerce des pressions de sélection qui favorisent les formes de *V. albo-atrum* les plus aptes à

esquiver ou à surmonter les obstacles qui lui oppose le piment et qu'il ne rencontrait pas chez son hôte d'origine, la tomate. Cette sélection est de toute évidence progressive. Après 3 passages chez des piments âgés, la lignée P_3S a conduit à la lignée P_3R_3 qui est devenue capable d'inhiber la croissance de ces piments et qui possède un faible pouvoir parasitaire vis-à-vis des piments jeunes. Après 3 passages supplémentaires chez des piments jeunes, a été individualisée la lignée $P_3R_3a^3$, aussi agressive à leur égard que des isolats inféodés naturellement au piment.

Vigouroux (1971) a observé des faits analogues. Selon cet auteur, le pouvoir pathogène des isolats de *Verticillium* sp. dépend étroitement du système de culture. Si ce système fait intervenir des espèces variées en rotation, les souches de *Verticillium* qu'on isole présentent des spécificités parasitaires très diverses. En revanche, dans une zone de monoculture, les caractéristiques des éléments de la population pathogène sont beaucoup plus homogènes.

Nos résultats ne se comprennent que s'il y a à la fois diversification des aptitudes parasitaires et pathogènes dans la descendance somatique d'une lignée génétiquement homogène à l'origine et sélection parmi la descendance du ou des types les plus compétitifs vis-à-vis de l'hôte auquel ils sont confrontés.

L'effet sélectif de l'hôte inhabituel paraît bien établi. En revanche nos expériences ne permettent pas de préjuger de la nature des mécanismes de va-

	Lignée					
	P_3S	P_3R_1	P_3R_3	P_3R_6	$P_3R_3a^1$	$P_3R_3\ a^3$
Diamètre moyen de la culture en mm (en 15 jours)	26,77 ± 0,80 [illegible]	26.90 ± 0,80 a	32,90 ± 1,02 b	36,07 ± 0,66 c	35,42 ± 0,50 c	37,32 ± 0,28 d
Date d'apparition des microsclérotes (jours)	4 à 5	4 à 6	8 à 10	12 à 15	13 à 15	14 à 17
Diamètre moyen de la zone pigmentée en mm (en 15 jours)	19,80 ± 0,99 f	16,95 ± 1,26 [illegible]	10,00 ± 0,66 d	5,14 ± 0,53 c	1,80 ± 0,42 b	0,70 ± 0,09 a

Tableau IV - Variations morphologiques du clone P_3S après passages répétés sur piment: croissance des thalles, densité des microsclérotes et date de leur apparition. a, b, c, voir Tabl. II.

Table IV - Morphologic variation of P_3S after serial passages through pepper: growth of mycelia, density of microsclerotia, and date of their appearance. a, b, c, see Tabl. II.

riation qui sont intervenus. Certains auteurs (Fordyce & Green, 1963; Vigouroux, 1971) évoquent des phénomènes d'adaptation physiologique pour expliquer les changements qui affectent le pouvoir pathogène de *Verticillium*. D'autres, comme Tailler (1986), avancent que des gains d'agressivité vis-à-vis d'un hôte peuvent résulter de mutations. Mais quel que soit le mécanisme qui conduit à ces changements du spectre d'hôtes et de l'agressivité de *Verticillium albo-atrum*, leurs implications agronomiques sont à prendre en considération lorsqu'on projette de réduire les dommages dus aux verticillioses: l'absence dans l'écosystème de souches spécialisées, seules capables d'attaquer avec succès une espèce hôte sélective, ne met pas cet hôte indéfiniment à l'abri de tout dommage. La simple substitution d'une espèce cultivée à une autre n'est pas à coup sûr une mesure suffisante. Mais pour aller au delà de cette simple mise en garde et proposer un système de rotation qui garantirait le bon état sanitaire des productions successives, nos premières recherches devront être étendues à d'autres espèces cultivées que la tomate et le piment et à d'autres souches de *Verticillium albo-atrum*.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient Monsieur le Professeur Chevaugeon pour ses nombeux avis et conseils dans la préparation et la réalisation du texte. Ils remercient également Monsieur Ben Chakri pour son aide technique.

BIBLIOGRAPHIE

EVANS G. and McKEEN C.D., 1975 - A strain of *Verticillium dahliae* pathogenic to sweet pepper in south western ontario. *Canad. J. Pl. Sc.* 55: 857-859.

FORDYCE C. and GREEN R.J., 1963 - Alteration of pathogenicity of *Verticillium albo-atrum* var. *menthae*. *Phytopathology* 53: 701-704.

GONDRAN J., 1984 - La verticilhose de la luzerne. Thèse Docteur Ingénieur, Univ. Poitiers, 140 p.

LAHLOU H., 1974 - Étude des caractéristiques morphologiques et biologiques de champignons parasites du genre *Verticillium*. Leur valeur taxonomique pour identifier les souches isolées au Maroc. *Al Awamia* 50: 1-87.

LAHLOU H., 1983 - Variabilité intraclonale de la morphologie et du pouvoir pathogène du *Verticillium albo-atrum* R et B, forme à microsclérotes. Thèse Doctorat d'État, Univ. Mohammed V, 229 p.

LINCOLN R.E., 1940 - Bacterial wilt resistance and genetic host-parasite interactions in maize. *J. Agric. Res.* 60: 217-239.

MALIK N.K. and MILTON J.M., 1980 - Survival of *Verticillium* in monocotyledonous plants. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 75: 469-498.

McGEARY F.M. and HASTIE A.C., 1982 - Hybridisation of *Verticillium albo-atrum* strains from tomato and lucerne. *Physiol. Pl. Pathol.* 21: 437-444.

NELSON R., 1950 - *Verticillium* wilt of peppermint. *Michigan Agric. Exp. Sta. Techn. Bull.* 221: 1-259.

TAILLER J.M., 1986 - Contribution à l'étude de la variabilité du pouvoir pathogène de *Verticillium dahliae*. Thèse Doctorat Université, Univ. Paris Sud, 62 p.

VIGOUROUX A., 1971 - Hypothèse pour expliquer la diversité du comportement pathogène des souches de *Verticillium* (Symposium International du *Verticillium*, 21-24 sept., Wye College, Londres).